Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.1, Spring 2020, P. 33-44
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹، ص. ۴۴-۳۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی اثر موم کارنوبا و گلیکول پتاس بر تحمل نهال پرتقال تامسون ناول در دماهای انجماد

سپیده تقی‌زاده[1]- حسین صادقی[2]*- مهدی حدادی نژاد [3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۰

چکیده

نفوذ توده هوای سرد سیبری به مناطق شمالی ایران، هر چند سال یکبار، باعث کاهش شدید دما، بارش سنگین برف و یخزدگی مرکبات می‌شود. بسته به میزان کاهش دما، در برخی از سال‌ها فقط میوه‌ها و در برخی از سال‌ها درختان مرکبات نیز دچار آسیب‌های مهلک شده‌اند. برای کنترل خسارات یخزدگی روش‌های زیادی پیشنهاد شده‌اند، اما محلول‌پاشی با ترکیباتی که محافظت فیزیکی درختان را در مقابل یخزدگی ممکن سازند و یا پاشیدن مواد شیمیایی که با تغییر غلظت شیره سلولی موجب کاهش نقطه انجماد مایع درون سلولی شوند، در زمان‌های نزدیک به یخبندان مورد توجه بیشتری هستند. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در پاییز و زمستان ۱۳۹۶ در سردخانه با دمای کنترل شده انجام شد. نهال‌های گلدانی یک ساله پرتقال تامسون ناول در معرض سه سطح دمایی (۵-، ۸- و ۱۱- درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. این نهال‌ها با موم کارنوبا در دو سطح (صفر و ۴ درصد) و گلایکول پتاس در دو سطح (صفر و ۱۰ درصد) محلول‌پاشی شدند. کمترین درصد نشت الکترولیت در دمای ۵- درجه سانتی گراد و بیشترین درصد نشت الکترولیت در دمای ۸- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. غلظت پرولین با کاهش دما افزایش یافت اما با کاهش بیشتر دما از ۸- درجه سانتی‌گراد دوباره روند کاهشی به خود گرفت. کاربرد موم کارنوبا در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش غلظت قندهای کل محلول شده است اما تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد و دمای ۱۱- درجه سانتی‌گراد نداشت. کاربرد توأم کارنوبا + گلایکول پتاس در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش غلظت کلروفیل کل شده است که تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نداشته است. آثار یخزدگی به‌صورت ریزش برگ و خشکیدگی سرشاخه‌ها در دمای ۸- درجه سانتی‌گراد قابل مشاهده است. نتایج این آزمایش نشان داد محلول‌پاشی نهال‌ها با موم کارنوبا در غلظت به کار رفته در این آزمایش تا دمای ۸- درجه سانتی‌گراد باعث کاهش آسیب تنش سرمایی شده است اما کاربرد گلایکول پتاس باعث افزایش تنش سرمایی شده است.

واژه‌های کلیدی: خشکیدگی سرشاخه‌ها، ریزش برگ، مرکبات، هوای سرد سیبری، یخزدگی گیاه

مقدمه

کاهش دمای هوا به زیر نقطه انجماد در اثر نفوذ توده های سرد انتقالی از مناطق قطبی به مناطق معتدله جهان و ایران در فصل زمستان باعث ایجاد خسارت های جبران ناپذیر به اندام‌های گیاهی و محصولات کشاورزی می‌گردد. هرچند سال یکبار نفوذ هوای بسیار سرد از مناطق سیبری به شمال ایران، باعث کاهش ناگهانی دما، وزش بادهای سرد و بارش سنگین برف می‌شود. دمای هوا در برخی از سال‌ها به ۱۲ درجه زیر صفر هم کاهش می‌یابد. اگرچه پایداری این سرما زیاد نیست اما بنا به شدت افت دما در برخی از سال‌ها فقط میوه‌ها و در برخی از سال‌ها درختان مرکبات نیز دچار آسیب‌های شدید می‌شوند. مهم‌ترین علت سرمازدگی محصولات کشاورزی و باغی در سواحل شمالی کشور حضور جریان پرفشار سیبری و نفوذ زبانه‌های آن است که سبب انتقال و ریزش هوای سرد از سمت شمال شرق به این مناطق می‌شود (۴). ازجمله کاهش ناگهانی دما در دی ماه ۱۳۸۶ است که دما از ۷ درجه به ۱۳- درجه سانتی‌گراد رسید که علاوه بر خسارت زدن به گلخانه‌ها و نهالستان‌ها، بیش از یک سوم درختان بارده پرتقال را نیز از بین برد و میوه های باقیمانده بر روی درختان هم با یخزدگی و کاهش کیفیت، غیر قابل مصرف شدند (۳۰). خسارت دیدن پی‌درپی درختان و محصول مرکبات در شمال کشور باعث شده است که باغداران مرکبات از اقتصادی بودن آن مأیوس شده و از احیای باغ های از بین رفته خودداری نمایند. در نتیجه احتمالا" در آینده نزدیک به تدریج از سطح زیر کاشت باغ‌های مرکبات در مناطق شمالی کاسته شده و کشور با کمبود این محصول مواجه گردد. بیشترین میزان تحمل به سرما در خانواده مرکبات در

---

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: sadeghiah@ yahoo.com)
۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی و پژوهشکده فناوری‌های زیستی گیاهان دارویی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

DOI: 10.22067/jhorts4.v34i1.78660

نارنج سه برگ[1] (۲۰- درجه سانتی‌گراد) که هم اکنون از هیبریدهای بین‌گونه‌ای آن مانند سیترنج و سیتروملو به عنوان پایه استفاده می گردد (۱۸). در برخی از گونه‌های مرکبات مانند پرتقال و نارنگی، تحمل نسبی به سرما تا ۹- درجه سانتی‌گراد وجود دارد اما میزان سرماهای اتفاقی تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد هم می‌رسد که در این موارد نیاز به محافظت دارند. مکانیسم‌های مقاومت به یخ‌زدگی و تحمل نسبی در مقابل سرما در مرکبات شامل تطبیق فیزیولوژیکی و تغییرات متابولیکی است. این تغییرات منجر به تولید اسمولیت‌های مختلف سلولی، تجمع مواد محلول، تغییر در متابولیسم لیپیدها (با افزایش اسید چرب غیراشباع) و یا افزایش دمای سوپر کولینگ (کاهش دمای بحرانی، در بسیاری از درختان میوه خزان کننده و همیشه سبز در واکنش به یخ‌زدگی و دماهای پایین) شده و در نهایت سبب افزایش مقاومت گیاه خواهند شد (۳۳). به کارگیری روش‌های غیرفعال[2] (انتخاب مکان مناسب کاشت، انتخاب ارقام و پایه‌های مقاوم به سرما، استفاده از بادشکن و خاک مناسب) و فعال[3] (استفاده از بخاری‌ها در باغ، غرقاب کردن باغ با استفاده از آب چاه و آبیاری بارانی) هم می توانند تا حدی از خسارات سرمازدگی جلوگیری نموده و یا شدت آسیب‌دیدگی را کاهش دهند، اما باغ‌های موجود نیازمند به تدابیر اختصاصی‌تر هستند. پژوهش‌هایی با استفاده از محلول‌پاشی اندام هوایی درختان مرکبات با مواد شیمیایی مختلف با هدف کاهش نقطه‌ی انجماد شیره سلولی و افزایش مقاومت گیاه قبل از شروع یخبندان انجام شده است، اما نتایج این آزمایش‌ها نشان می‌دهند که ترکیبات مورد استفاده نتوانستند گیاهان را در مقابل یخ‌زدگی محافظت نمایند و یا از نقطه نظر تجاری قابل قبول نبوده‌اند لذا این تلاش‌ها همچنان ادامه دارند. کاربرد اسید سالسیلیک با غلظت ۰/۵ میلی مولار به‌طور مؤثری باعث افزایش قندهای محلول و کاهش نشت الکترولیت نهال‌های لیمو شده است (۵). موم کارنوبا که از برگ نخل (*Copernicia prunifera*) به دست می‌آید و به عنوان ملکه‌ی موم‌ها نامیده می‌شود (۳۴)، به‌طور وسیعی برای جلوگیری از سرمازدگی و صنایع پس از برداشت مرکبات مورد استفاده قرار گرفته است. این موم به‌عنوان پوششی برای میوه‌های پرتقال در طی دوره‌ی انبارداری و برای جلوگیری از خسارت ناشی دمای پایین انبارهای سرد به کار می‌رود. استفاده از ترکیب تجاری ویپورگارد[4] و واکس کارنوبا برای محافظت از سرماهای زیر صفر در درختان پرتقال والنسیا و گریپ‌فروت در شرایط باغ نشان داد که کاربرد این مواد تا حدی باعث کاهش یخ‌زدگی میوه‌ها گردید (۳۲). استفاده از موم کارنوبا و موم زنبورعسل می‌تواند با کاهش تنفس، مدت زمان نگه‌داری میوه پرتقال را در انبار سرد افزایش دهد (۱۶). کاربرد واکس کارنوبا در طول دوره انبارداری طولانی مدت در دمای پایین، سبب کاهش تنفس، جلوگیری از چروکیده شدن و از دست دادن آب میوه و حفظ سفتی میوه شده است (۳۱). محتوای بالای پتاسیم گیاه نیز سبب افزایش تحمل درختان مرکبات به آفات و بیماری‌ها، خشکسالی و سرما و دیگر تنش‌های محیطی می‌شود (۱۵). بین خسارات تنش سرمایی و محتوای پتاسیم برگ رابطه‌ی منفی وجود دارد به‌طوری‌که افزایش سطح پتاسیم می‌تواند به‌طور مؤثری گیاه را در برابر یخ‌زدگی حفظ نماید. علاوه بر این محتوای پتاسیم سیتوسل برای تنظیم آنزیم‌هایی که در مقابل یخبندان مؤثرند لازم است. معمولاً بروز سرماهای زیر صفر همیشه در طبیعت وجود ندارند و بطور ناگهانی اتفاق می افتند و بطور مصنوعی هم کاهش دمای محیط باغ به دماهای انجماد عملا امکان‌پذیر نمی‌باشد، لذا در این آزمایش با استفاده از سردخانه زیر صفر و شبیه سازی سرماهای واقعی سعی گردید خسارات یخ‌زدگی نهال‌های یکساله پرتقال تامسون ناول (رایج‌ترین رقم مرکبات منطقه) مورد ارزیابی قرار گیرد. با توجه به این واقعیت که دماهای زیر صفری که معمولا باعث از بین رفتن نهال‌ها می‌شوند به مراتب کمتر از دماهایی است که می‌توانند درختان بالغ را از بین ببرند بنابراین این دماها می‌توانند شاخصی برای تحمل درختان بالغ هم تلقی گردند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش از پاییز ۱۳۹۶ تا بهار ۹۷ در سردخانه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری بر روی نهال‌های گلدانی (خاک لوم) پرتقال تامسون ناول با ارتفاع یکنواخت (حدود ۱/۵ متر طول و قطر ۱/۵ سانتی‌متر) و پیوند شده بر روی پایه‌ی سیترملو انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل دماهای زیر صفر در سه سطح (۵-، ۸-و ۱۱- درجه سانتی‌گراد) و محلول‌پاشی با دو نوع ماده آزمایشی شامل موم کارنوبا در دو غلظت صفر و چهار درصد (تهیه شده از شرکت Orange Saft S.L اسپانیا) و گلایکول پتاس در دو غلظت صفر و ۱۰ درصد (تهیه شده از شرکت پوشش حیات سبز ایران)، تیمار توأم موم کارنوبا + گلایکول پتاس (موم کارنوبا با غلظت چهار درصد و گلایکول پتاس با غلظت ۱۰ درصد) و تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر) بود.

نحوه‌ی اعمال تیمارها

نهال‌ها، ۴۸ ساعت قبل از اعمال تنش سرمایی و انتقال به سردخانه محلول‌پاشی شدند. به‌منظور جلوگیری از شوک دمایی و تطابق نهال‌ها با سرما، دما به‌صورت تدریجی و به ازای هر دو ساعت یک درجه کاهش داده شد تا به دماهای موردنظر (°C ۵-، °C ۸-

1- Trifoliate orang
2- passive
3- active
4- vapor Gard

و°C ۱۱-) برسد. بعد از تثبت دما، نهال‌ها به مدت ۱۲ ساعت در دماهای تعیین‌شده نگه‌داری شدند. پس از اتمام زمان نگه‌داری نهال‌ها، افزایش تدریجی دما به همان شکل کاهش داده شده، انجام گرفت. رطوبت سردخانه در این دماها معمولا کمتر از نقطه شبنم و تجمع رطوبت بر سطح نهال‌ها می‌باشد که در این آزمایش رعایت شد. برای انجام آزمایشات، برگ‌ها قبل از خاموش شدن سردخانه نمونه برداری شدند و با استفاده از نیتروژن مایع به فریزر°C ۱۸- منتقل شدند. مشاهدات ظاهری برگ‌ها نیز یک ماه پس از قرار گرفتن در دمای معمولی رشد انجام شد.

روش‌های اندازه‌گیری صفات مورد نظر:

درصد ریزش برگ :

تعداد برگ‌ها بلافاصله بعد از خروج از سردخانه و یک ماه بعد شمارش شدند و با استفاده از فرمول زیر درصد ریزش برگ‌ها محاسبه شد.

$$\text{درصد ریزش برگ} = \frac{\text{تعداد برگ نهایی} - \text{تعداد برگ اولیه}}{\text{تعداد برگ اولیه}} \times ۱۰۰$$

درصد خشکیدگی سرشاخه:

تعداد شاخه‌های سالم در زمان خروج از سردخانه به عنوان شاخه‌های اولیه و تعداد شاخه‌های خشکیده بعد از یک ماه، با استفاده از فرمول زیر درصد شاخه‌های خشکیده محاسبه گردید.

$$\text{درصد خشکیدگی سرشاخه ها} = \frac{\text{تعداد سرشاخه های خشکیده} - \text{تعداد سرشاخه های اولیه}}{\text{تعداد سرشاخه های اولیه}} \times ۱۰۰$$

نشت الکترولیت (EL) به عنوان شاخص پایداری غشا با استفاده از ۰/۳ گرم نمونه بافت برگ اندازه‌گیری شد. نمونه‌های بافت برگ را پس از سه بار شستشو با آب مقطر به لوله‌ی آزمایش حاوی ۱۰ سی‌سی آب مقطر منتقل و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر با ۱۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد، سپس هدایت الکتریکی آب مقطر همراه با نمونه‌های برگی به عنوان نشت اولیه(EC_1) با دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها را به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو و پس از سرد شدن آن‌ها، ، نشت ثانویه (EC_2) را نیز با EC متر قرائت کرده و میزان نشت الکترولیت EL را از رابطه‌ی زیر به دست آمد (۲۳).

$$\%EL = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

برای تعیین مقدار پرولین بافت برگ، ابتدا ۰/۵ گرم از بافت برگ را با ازت مایع پودر شد و با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳% مخلوط گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفوژ شد تا مواد اضافی از محلول جدا شود. ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده را به فالکون‌های دربدار منتقل نموده و به هر کدام ۲ میلی‌لیتر اسید ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به افزوده و به خوبی تکان داده تا مخلوط گردد. نمونه‌ها را به مدت یک ساعت در بن ماری°C ۱۰۰ قرار گرفت .پس از آن درون حمام یخ قرار داده شد . مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه شد و به مدت ۲۰ ثانیه با دستگاه ورتکس شد تا محلول دو فازی تشکیل شود. ، از فاز بالایی مخلوط با شاهد تولوئن در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج نوری (MAPADA مدل uv-1800 ساخت چین) قرائت گردید و درنهایت با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین، میزان پرولین با توجه به فرمول زیر محاسبه گشت (۹).

$$\text{میکرو مول پرولین بر گرم وزن تر} = \frac{[(\text{میکرو گرم پرولین/میلی‌لیتر}) \times (\text{میلی لیتر تولوئن})/115/5]}{(0/5)\text{گرم بافت گیاهی}}$$

برای اندازه گیری قندهای کل محلول ۴۰ میلی‌گرم از نمونه‌ی خشک شده برگ با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط در لوله‌های پلی اتیلنی مخلوط گشت و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت عصاره‌ی الکلی به‌دست‌آمده به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ g سانتریفوژ شد. محلول شفاف به‌دست‌آمده حاوی قندهای محلول به یک بشر منتقل گردید و عمل فوق ۴ مرتبه دیگر بر روی بقایای بافتی به جامانده تکرار و در نهایت حجم عصاره غلیظ شده به یک پنجم حجم اولیه رسید. برای اندازه‌گیری قند کل ۰/۲ میلی‌لیتر (۲۰۰ میکرولیتر) از عصاره غلیظ شده‌ی الکی از برگ خشک گیاهی را با ۳ میلی‌لیتر آنترون مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن نمونه‌ها میزان جذب نور در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد. منحنی استانداردی که با استفاده از غلظت‌های مختلف گلوکز به دست آمد و نمونه‌ی فاقد گلوکز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. با قرار دادن طول موج به دست آمده از دستگاه اسپکتروفتومتر به جای Y در معادله خط به دست آمده، میزان قندهای محلول برحسب میکروگرم به گرم وزن تر بافت گیاهی به دست آمد (۲۵)

$$Y = 0.025X - .19$$

میزان کلروفیل کل به روش آرنون و همکاران (۱۹۷۶) با استفاده از ۰/۵ گرم بافت تر برگ گیاهی که با ازت مایع پودر شده و بر اساس استخراج با حلال استون ۸۰ درصد و اندازه‌گیری جذب محلول در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ قرائت و غلظت کلروفیل کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر به دست آمد (۳).

$$\text{کلروفیل کل} = 20.2(A645) + 8.02(A663) \times \frac{V}{100W}$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS 9.1 و کلیه مقایسات میانگین در سطح پنج درصد و توسط آزمون دانکن انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel ۲۰۱۳ استفاده گردید.

نتایج

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محلول‌پاشی بر صفات نشت الکترولیت، پرولین، ریزش برگ و خشکیدگی سرشاخه‌ها در سطح ۱ درصد معنادار بوده اما بر غلظت کلروفیل کل برگ و قندهای کل محلول تأثیر معنی‌داری نداشته است. دماهای زیر صفر بر تمامی صفات اندازه‌گیری شده در سطح ۱ درصد اثر معنی‌داری داشته است. اثرات متقابل محلول‌پاشی و دماهای زیر صفر بر نشت الکترولیت، قندهای کل محلول و پرولین در سطح ۵ درصد اما بر کلروفیل کل و ریزش برگ و خشکیدگی سرشاخه‌ها در سطح ۱ درصد معنادار بود. (جدول ۱)

جدول ۱- تجزیه واریانس نشت الکترولیت، کلروفیل کل، پرولین، قند کل، ریزش برگ، خشکیدگی سرشاخه‌های نهال پرتقال تامسون ناول در دماهای انجماد

Table 1- ANOVA for electrolyte leakage, total chlorophyll, proline, soluble sugar, leaf abscission, shoot dying back of Thamson- navel orange young trees at freezing temperatures

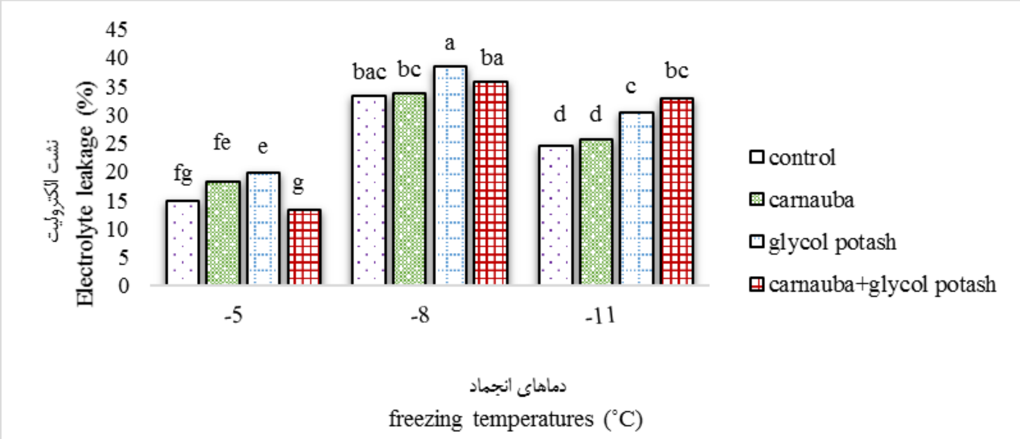
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	کلروفیل کل Total chlorophyll	پرولین Proline	قندهای کل‌محلول Total soluble sugar	ریزش برگ Leaf abscission	خشکیدگی سرشاخه Shoot dying back
محلول‌پاشی Spraying	3	45.07**	0.0025ns	1.97 **	251.21 ns	1541.26**	802.54**
دماهای انجماد Freezing temperature	2	102.7**	0.68**	19.7 **	2529.65**	3410.25**	19506.25**
اثر متقابل محلول پاشی و دماهای انجماد Interactio spraying and freezing temperatures	6	22.006*	0.109**	0.92*	426.85 *	739.65**	1044.21**
خطای آزمایش Error	24	6.72	0.002	0.27	161.11	256.13	132.63
ضریب تغییرات CV	-	9.79	9.59	15.1	19.41	22.91	23.22

ns ، *، ** به ترتیب عدم معنی‌داری، معنادار شدن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

ns, *, **; non-significant and significant in 5% and 1% of probability level, respectively.

نشت الکترولیت

نشت الکترولیت، نشت کنترل نشده یون‌های آلی از غشای سلولی، بر اثر تنش و آسیب به غشا می‌باشد. غشای سلولی نخستین اندامی است که تحت تنش سرمایی آسیب می‌بینند و باعث افزایش تدریجی اسمولیت‌های (یون‌های) آلی از واکوئل سلول‌های گیاهی می شود و در نهایت سبب افزایش نشت یون‌های آلی و تراوایی غشا خواهد شد (۶). در این آزمایش بیشترین میزان درصد نشت الکترولیت در دمای°C۸- (۳۳/۳۳ درصد) دیده شد که اختلاف بسیار معنی‌داری با درصد نشت الکترولیت درختان شاهدی که در معرض دمای °C۵- (۱۴/۹۲ درصد) و درختان شاهدی که در دمای °C ۱۱- (۲۴/۸۶ درصد) قرار گرفتند، داشت. کاربرد موم کارنوبا در هر سه دمای مورد آزمایش تأثیر معنی‌داری بر افزایش نشت الکترولیت نسبت به شاهد در همان دما نداشت اما، گلایکول پتاس به‌طور معنی‌داری سبب افزایش نشت الکترولیت درختان تیمار شده در تمامی دماها نسبت به شاهد شده است. افزایش نشت الکترولیت در تیمار گلایکول پتاس می‌تواند ناشی از هم پاشیدگی سلول گیاهی باشد که تحت تأثیر هیپرتونیک بودن گلایکول پتاس قرار گرفته و با ایجاد فشار اسمزی بالا و پلاسمولیز سلول گیاهی موجب فروپاشی سلولی شده است (۲۷).کاربرد توأم موم کارنوبا و گلایکول پتاس در دمای ۵ - باعث کاهش نشت الکترولیت نسبت به شاهد شد، اما در دمای °C ۸- (۳۵/۶۹) اختلاف معنی‌دار نبود و در دمای °C ۱۱- (۳۲/۸) افزایش یافته است (شکل ۱). کمترین درصد نشت الکترولیت در دمای °C۵- و بیشترین درصد نشت الکترولیت در دمای °C۸- مشاهده شد که در دمای °C۱۱- کمی کمتر از دمای °C۸- بود. افزایش نشت الکترولیت با کاهش دما به دلیل خسارت دیدن غشا سلول است اما با تشدید تنفس و مرگ سلول از میزان نشت الکترولیت کاسته می‌شود. به نظر می‌رسد کاهش نشت الکترولیت در دمای °C۱۱- به دلیل مرگ سلولی باشد.



شکل ۱- اثر متقابل دماهای انجماد × محلول‌پاشی بر درصد نشت الکترولیت نهال پرتقال تامسون ناول

Figure 1- Interaction effect of freezing temperatures and spraying on electrolyte leakage of Thamson- navel orange young trees (DMRT, $p \leq 0.05$)

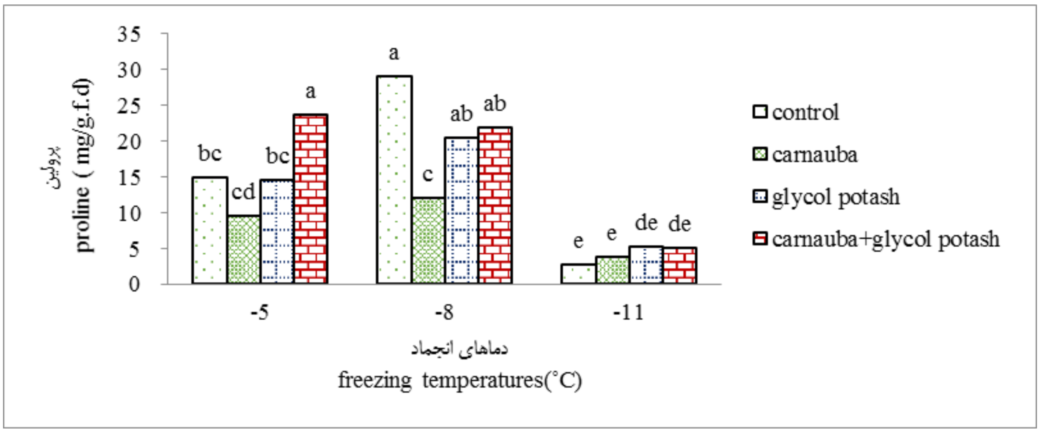
پرولین

پرولین به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان بر تنظیم فعالیت میتوکندری، تکثیر و مرگ سلول اثر دارد و باعث بیان ژن‌های خاصی که در بهبود وضعیت گیاه در شرایط تنش ضروری هستند، می‌شود (۳۷). غلظت پرولین با کاهش دما افزایش یافت اما با کاهش بیشتر دما از°C ۸- دوباره روند کاهشی به خود گرفت بطوریکه از مقدار پرولین در دمای°C ۵- هم کمتر شد. بیشترین میزان پرولین در دمای°C ۸- (۲۰/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) و دمای°C ۵- (۱۵/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) دیده شد و کمترین آن با اختلاف بسیار معناداری در دمای ۱۱°C- (۴/۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) مشاهده گردید. کاهش غلظت پرولین با کاهش بیشتر دما (۱۱°C-) به دلیل تخریب سریع بافت‌های گیاهی و عدم امکان تولید زیر ساخت پرولین در شرایط تنش شدید سرمایی بود به طوری که مقدار آن از دمای°C ۵- کمتر شد. کاربرد موم کارنوبا در دمای°C ۵- باعث کاهش غلظت پرولین (۹/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) نسبت به شاهد (۱۴/۹۳ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) شده است اما با آن اختلاف معنی‌داری نداشت. در دمای ۸°C- کاربرد موم کارنوبا سبب کاهش غلظت پرولین برگ‌ها (۱۲/۱۴ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) شد که با شاهد (۲۹/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) اختلاف معنی‌داری نشان داد. در شرایط تنش، پرولین از مسیر گلوتامیک اسید توسط آنزیم دلتا-1-پرولین 5- کربوکسیلاز (P5CS) با مصرف ATP و احیا NADPH تولید می‌شود (۲۲).کاهش غلظت پرولین در تیمار کارنوبا ناشی از تأثیر موم کارنوبا در کاهش تنفس است که سبب کاهش تولید ATP در سلول گیاهی می‌گردد در نتیجه سبب کاهش تولید پرولین می‌شود (۷). کاربرد گلایکول پتاس در دمای ۵°C- تأثیر معنی‌داری بر غلظت پرولین (۱۴/۵۰ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) نسبت به شاهد (۱۴/۹۳ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) نداشته است. در دمای ۸°C- نیز کاربرد گلایکول پتاس سبب کاهش غلظت پرولین شده است (۲۰/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر)، اما اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد (۱۳/ ۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) نداشته است.

غلظت قندهای کل محلول

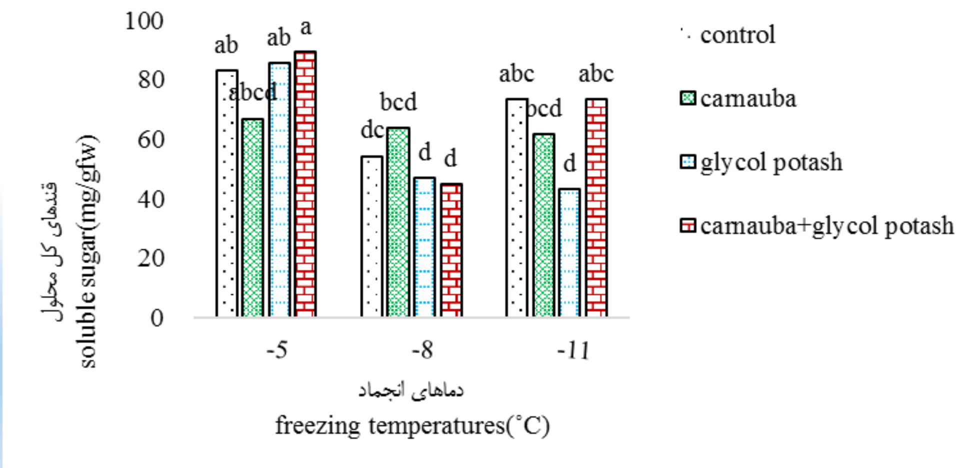
گیاهان می‌توانند تحمل به انجماد را به‌تدریج در دمای پایین افزایش دهند. قندهای محلول در طی این فرآیند نقش مهمی داشته و از راه‌های مختلفی همچون اسموپروتئین، مواد مغذی و تعامل بالا با لیپیدهای غشایی از سلول‌های گیاهی در برابر آسیب‌ها محافظت کنند (۴۳). غلظت قندهای محلول با اختلاف معنی‌دار در دمای ۵°C- بیشتر از دمای ۸°C- و ۱۱°C- بود. بین غلظت قندهای محلول در دماهای۸°C- و ۱۱°C- تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. کاربرد موم کارنوبا در دمای ۵°C- سبب کاهش غلظت قندهای کل محلول شده است (۶۶/۹۲ میکروگرم بر گرم وزن‌تر) اما تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد (۸۳/۲۳) و دمای °C ۱۱- نداشت. همین روند در دمای ۸°C- و ۱۱°C- هم دیده شد. کاربرد گلایکول پتاس در دمای ۵°C- باعث افزایش غلظت قند شده است (۸۵/۵۵ میکروگرم بر گرم وزن‌تر) اما تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد (۸۳/۲۳ میکروگرم بر گرم وزن‌تر) نداشته است؛ اما در دمای °C ۸- کاربرد گلایکول پتاس تا حدی سبب کاهش غلظت قند شده است (۴۷/۱۱ میکروگرم بر گرم وزن‌تر) که تفاوت معنادار نسبت به شاهد (۵۴/۳۲ میکروگرم بر گرم وزن‌تر) نداشت اما این روند در دمای ۱۱°C- تفاوتی معنی‌دار در سطح ۱ درصد داشت. کاهش قندهای محلول با کاهش دما به دلیل مصرف قند در سنتز متابولیت‌هایی چون پرولین در اندام هوایی است (۱۷) زیرا کاهش یکی از محافظت‌کننده‌های اسمزی، ناشی از سنتز و افزایش دیگر متابولیت و محافظت‌کننده اسمزی در شرایط تنش است

(۱۲) که همبستگی منفی بین غلظت قندهای محلول و غلظت پرولین در این آزمایش وجود دارد نشان‌دهنده رابطه‌ی عکس سنتز پـرولین و قند است.



شکل ۲- اثر متقابل دماهای انجماد × محلول‌پاشی بر غلظت پرولین برگ نهال‌های تامسون ناول

Figure 2- Interaction effect of freezing temperatures ×spraying on proline concentration of Thamson- navel orange young trees (DMRT, *p≤0.05*)



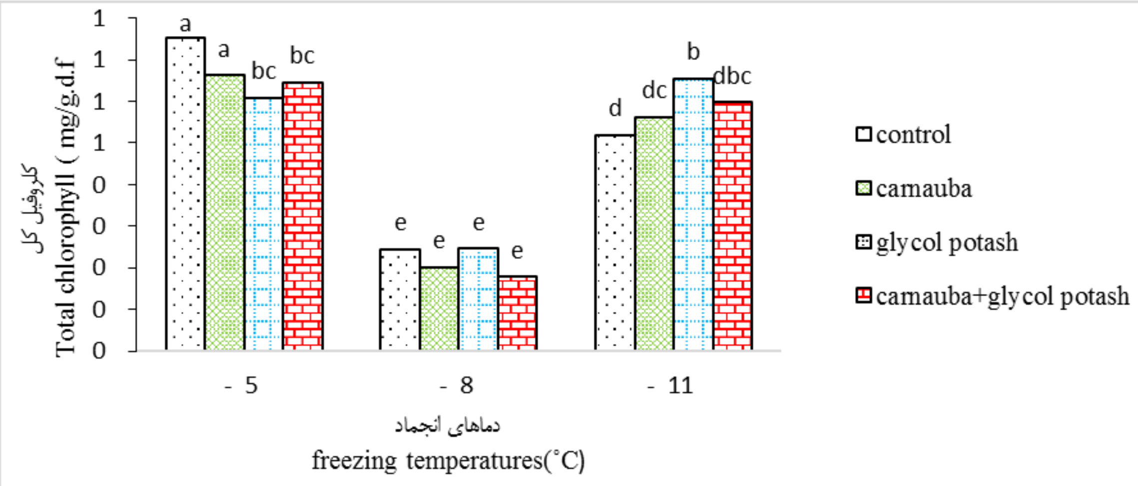
شکل ۳- اثر متقابل دماهای انجماد × محلول‌پاشی بر غلظت قندهای کل محلول برگ نهال پرتقال تامسون ناول

Figure 3- Interaction effect of freezing temperatures ×spraying on soluble sugar of Thamson- navel orange young trees leaf (DMRT, *p≤0.05*)

کلروفیل کل

بیشترین غلظت کلروفیل کـل در بـرگ گیاهـانی کـه در دمـای ‎-۵°C (۰/۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) قرار گرفته بودند مشـاهده شـد که اختلاف بسیار معنی‌داری با دمای ‎-۸°C (۰/۲۴ میلی‌گرم بـر گـرم وزن‌تر) داشت اما در دمای ‎-۱۱°C (۰/۵۱ میلی‌گرم بـر گـرم وزن‌تـر) این اختلاف معنی‌دار نبـود. غلظـت کلروفیـل بـرگ‌هـای نهـال‌هـای محلول‌پاشی شده با موم کارنوبا در دمای ‎-۵°C (۰/۶۶) اندکی کمتـر از شاهد (۰/۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) بوده است امـا بـا آن تفـاوت معنی‌داری نداشته است همین روند در تیمـار کارنوبـا در دمـای‎-۸°C (۰/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) مشـاهده شـد کـه بـه دلیـل خاصـیت پوششی موم کارنوبا که سبب کاهش تنفس، کاهش نفوذپذیری CO_2 ، کاهش خروج CO_2 از برگ و در واقع مانع تبـادلات گـازی مـی‌شـود (۱۱) که این رویداد سبب کاهش فتوسنتز خالص و کـاهش محتـوای کلروفیل خواهد شد (۳۹) همچنین کم بودن غلظت کلروفیل در تیمـار توأم کارنوبا + پتاسیم گلیکول ناشی از اثـر غالـب کارنوبا بـر غلظـت کلروفیل کل است اما غلظت کلروفیل برگ نهال‌های تیمـار شـده بـا کارنوبا در دمای ‎-۱۱°C (۵۶/۰ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) کمی بیشتر از تیمار شاهد (۰/۵۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) بود اما بـه هـر حـال ایـن تفاوت هم معنی‌دار نشد. کـاربرد تـوأم کارنوبـا+ گلایکـول پتـاس در دمای ‎-۵°C سبب کاهش غلظت کلروفیل کل (۰/۶۴ میلـی‌گـرم بـر

گرم وزن‌تر) با تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد (۰/۷۵) شده است؛ اما در دمای ‎-۱۱°C‏ این روند افزایشی بوده و کاربرد توأم کارنوبا + گلایکول پتاس در تمامی تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت و با اختلاف بسیار معنی‌دار از دمای ‎-۵ °C‏ و ‎-۱۱ °C‏ کمتر بود. در این آزمایش غلظت کلروفیل کل هم تحت تأثیر دما قرار گرفته است. کمترین غلظت کلروفیل در دمای ‎-۸°C‏ و بیشترین آن در دمای ‎-۵°C‏ مشاهده شد اما در دمای ‎-۱۱°C‏ غلظت آن افزایش داشته است. کاهش محتوای کلروفیل درنتیجه کاهش دما ناشی از افزایش اکسیژن فعال (ROS) است که سبب آسیب به سیستم فتوسنتزی می‌شود (۲۱). به نظر می‌رسد افزایش معنادار غلظت کلروفیل در دمای ‎-۱۱°C‏ نسبت به غلظت کلروفیل در دمای ‎-۸°C‏ ناشی از تخریب قسمت داخلی کلروپلاست و خروج رنگیزه های کلروفیل از داخل لومن تیلاکوئید است، به‌طوری‌که شرایط برای شکل‌گیری قسمت‌های سر و دم کلروفیل به‌طور موقت مهیا می‌گردد و درنتیجه تعداد کلروفیل ساخته شده نسبت به مرحله‌ی قبلی (دمای ‎-۸‏ درجه سانتی‌گراد) افزایش می‌یابد اما نسبت به غلظت کلروفیل در دمای بالاتر (‎-۵‏ درجه سانتی‌گراد) کمتر و تخریب آن بیشتر است..

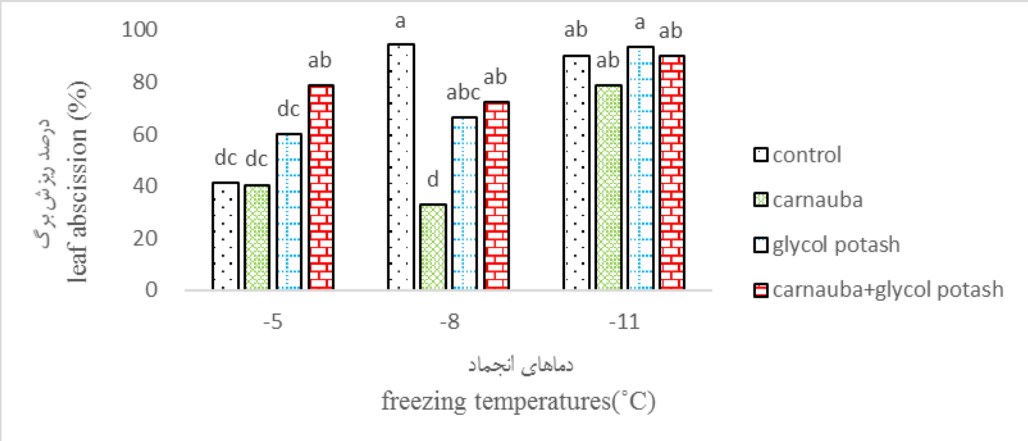


شکل ٤- اثر متقابل دماهای انجماد و محلول‌پاشی بر غلظت کلروفیل کل برگ نهال پرتقال تامسون ناول

Figure 4- Interaction effect of freezing temperatures ×spraying on total chlorophyll of Thamson- navel orange young trees leaf (DMRT, $p\leq0.05$)

درصد ریزش برگ

تحمل به سرما و یخزدگی در قسمت‌های مختلف درختان مرکبات متفاوت است، تحمل میوه‌ها از برگ‌ها کمتر و برگ‌ها هم مقاومت کمی نسبت به سرما دارند (۱۶). دماهای زیر صفر تأثیر معنی‌داری بر درصد ریزش برگ داشته‌اند. بیشترین درصد ریزش برگ در دمای ‎-۱۱°C‏ و کمترین آن با اختلاف معنی‌داری در دمای ‎-۵°C‏ مشاهده شد. افزایش ریزش برگ با کاهش دما ناشی از افزایش نشت یونی و کاهش محتوا و پتانسیل آب برگ و آب گز شدن برگ‌ها بوده است که در دمای ‎-۱۱°C‏ به‌صورت نقاط قهوه‌ای رنگ روی نهال‌ها باقی مانده بود (۲ ، ۸). تیمارهای آزمایشی سبب نگه‌داری برگ‌ها در دمای ‎-۵°C‏ نشدند محلول‌پاشی نهال‌ها با گلایکول پتاس در دمای ‎-۵°C‏ سبب افزایش درصد ریزش برگ (۶۰ درصد) نسبت به تیمار شاهد (۴۱/۲ درصد) شده است. حتی کاربرد توأم گلایکول پتاس و موم باعث افزایش ریزش هم شدند اما تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌داری در دمای‎°C -۸‏ سبب کاهش ریزش برگ نهال‌ها (۷۸/۶۲ درصد) نسبت به شاهد (۹۰/۳۲ درصد) شدند. تیمارهای آزمایش در ‎-۱۱°C‏ نتوانستند از ریزش برگ‌ها جلوگیری کنند. کمترین درصد ریزش برگ در تیمار کارنوبا و بیشترین آن در تیمار توأم کارنوبا + گلایکول پتاس مشاهده شده که تفاوت معنی‌داری با تیمار گلایکول پتاس و تیمار شاهد نداشت. به نظر می‌رسد کاهش ریزش برگ در تیمار موم کارنوبا به دلیل دارا بودن فاز لیپیدی موم کارنوبا است که به شکل مانع فیزیکی و پوششی، با پر کردن منافذ سطح سبب کاهش اثر انجماد و خسارت آن و کاهش از دست دادن آب سلول گیاهی در شرایط یخبندان می‌شود (۲۹). . افزایش درصد ریزش برگ در تیمار کارنوبا + پتاسیم گلایکول ناشی از اثر منفی پتاسیم گلایکول بر برگ‌ها است به طوری که سبب تشدید آسیب به برگ و افزایش سوختگی و ریزش برگ می‌شود.

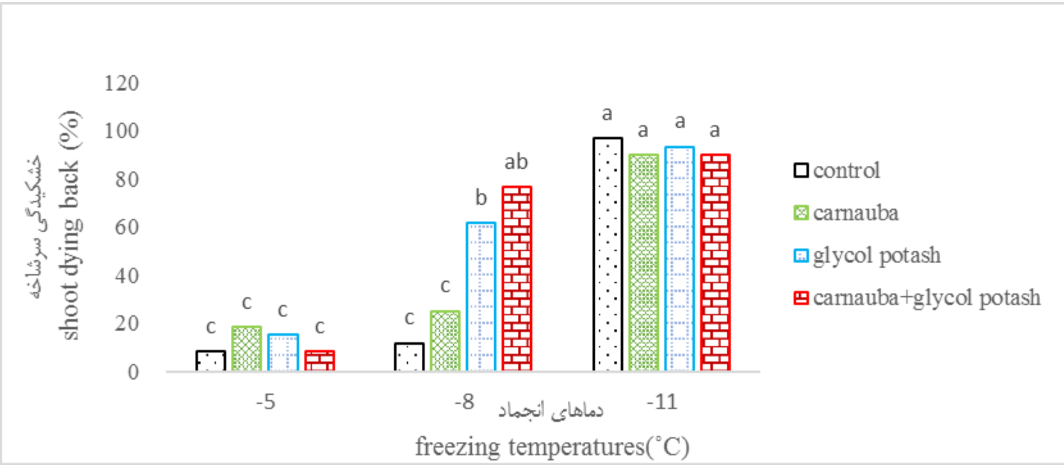


شکل ۵- اثر متقابل دماهای انجماد × محلول‌پاشی بر درصد ریزش برگ نهال پرتقال تامسون ناول

Figure 5- Interaction effect of freezing temperatures×spraying on leaf abscission of Thamson- navel orange trees young leaf (DMRT, *p≤0.05*)

درصد خشکیدگی سرشاخه

سرشاخه‌ها و شاخه‌های جوان به سرما و یخبندان بسیار حساس هستند به طوری که بافت‌های آن بر اثر سرما تغییر رنگ می‌دهند. اگر شدت سرما و یخبندان زیاد باشد سبب خشک شدن سرشاخه‌ها می‌گردد. دماهای زیر صفر بر درصد خشکیدگی سرشاخه تأثیر معنی‌داری داشته است بیشترین درصد خشکیدگی سرشاخه‌ها در دمای ‎-۱۱°C‏ و کمترین آن در دمای ‎-۵°C‏ مشاهده شده که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشته‌اند. دما تأثیر معنی‌داری در خشکیدگی سرشاخه داشته به‌طوری‌که بیشترین خشکیدگی سرشاخه‌ها در دمای ‎-۱۱°C‏ (۹۱/۶۶ درصد) و کمترین آن در دمای ‎-۵°C‏ (۱۰/۴۱ درصد) مشاهده گردید. تیمارهای آزمایش نیز نتوانستند در دمای ۱۱- از خشکیدگی سرشاخه‌ها جلوگیری نمایند. در دمای ‎-۵°C‏ نیز خشکی سرشاخه‌ها با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند اما به‌طور معنی‌داری گلایکول پتاس باعث افزایش خشکیدگی سرشاخه‌ها شده است بیشترین درصد خشکیدگی سرشاخه در تیمار کارنوبا و گلایکول پتاس و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شده است. افزایش درصد خشکیدگی سرشاخه‌ها در تیمار کارنوبا + گلایکول پتاس ناشی از اثر منفی گلایکول پتاس بر برگ‌ها و سرشاخه‌ها است به طوری که بر طبق مشاهدات این آزمایش کاربرد گلایکول پتاس سبب تشدید آسیب به برگ‌ها و سرشاخه‌ها و افزایش کلروز و نکروز شده است.



شکل ٦- اثر متقابل دماهای انجماد × محلول‌پاشی بر درصد خشکیدگی سرشاخه‌های نهال پرتقال تامسون ناول

Figure 6- Interaction effect of freezing temperatures×spraying on Shoot dying back of Thamson- navel orange young trees (DMRT, *p≤0.05*)

جدول ۲- ضریب همبستگی صفات تحت تأثیر محلول‌پاشی و دماهای انجماد در نهال پرتقال تامسون ناول
Table 2- Correlation coefficient of traits effect by spray application and freezing temperatures

صفات Traits	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	کلروفیل کل Total chlorophyll	پرولین Proline	قندهای کل محلول Total soluble sugar	خشکیدگی‌سرشاخه‌ها Shoot dying back	ریزش برگ Leaf abscission
نشت الکترولیت Electrolyte leakage	1					
کلروفیل کل Total chlorophyll	-0.597**	1				
پرولین Proline	0.209^{ns}	−0.392*	1			
قندهای کل محلول Total soluble sugar	−0.553**	0.469**	− 0.138^{ns}	1		
خشکیدگی‌سرشاخه‌ها Shoot dying back	0.181^{ns}	− 0.137^{ns}	−0.548**	−0.436**	1	
ریزش برگ Leaf abscission	· 0.061^{ns}	− 0.175^{ns}	− 0.48^{ns}	0.138^{ns}	0.481**	1

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری، معنادار شدن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.
ns, *, **; non-significant and significant in 5% and 1% of probability level, respectively.

تجزیه همبستگی

نتایج تجزیه همبستگی کانونیک نشان داد بین درصد نشت الکترولیت با غلظت کلروفیل کل همبستگی منفی معنی‌داری در سطح ۱ درصد (r= - ۰/۵۹۷) وجود دارد که ناشی از اثر تخریبی رادیکال‌های فعال اکسیژن بر روی رنگدانه‌های کلروفیل (۳۸) و کاهش سریع و دائمی محتوای ATP سلول تحت تأثیر تنش سرمایی است که سبب افزایش نشت الکترولیت سلول خواهد شد (۲۴) و همبستگی منفی معنی‌داری که بین درصد نشت الکترولیت و قندهای کل محلول در سطح ۱ درصد (r=-۰/۵۵۳) وجود دارد ناشی از تأثیر قندهای سلول بر تثبیت غشای سلولی در شرایط تنش سرمایی است به طوری که یا قندهای مختلف با اتصال به گروه فسفات در ساختار غشای سلولی، اثر تثبیت کننده‌ای بر غشای دولایه‌ای سلولی که در طی انجماد دارند و با تأثیر بر ساختار آب سبب ثبات لایه فسفولیپیدی و کاهش نفوذپذیری غشا می‌شوند (۳۶). افزایش نشت الکترولیت ناشی از آسیب به ساختار غشا است که رابطه‌ی معکوسی با غلظت قندهای محلول در سلول گیاهی دارد. افزایش غلظت قندهای محلول در آپوپلاست گیاهان مقاوم به سرما نقش مهمی در حفاظت از غشای پلاسمایی با تثبیت غشا به‌طور مستقیم یا با تحریک محافظت‌کننده‌های غشا به‌طور غیرمستقیم دارد (۴۲).

همبستگی منفی معنی‌داری بین غلظت پرولین برگ‌های نهال با کلروفیل کل در سطح ۵ درصد وجود دارد (r= -۰/۳۹۲). تنش سرمایی سبب تجمع پرولین و کاهش غلظت کلروفیل در سلول‌های برگ می‌گردد (۱). غلظت بالای پرولین سبب آسیب به ساختار کلروپلاست و میتوکندری می‌شود که ناشی از دخالت پرولین در سیستم انتقال الکترون است به نحوی‌که پرولین مانع از انعطاف‌پذیری گیرنده‌ی الکترونی در فتوسیستم دستگاه فتوسنتزی می‌شود (۱۰) که این امر سبب همبستگی منفی بین غلظت پرولین و محتوای کلروفیل کل است. بین غلظت پرولین برگ‌های نهال با درصد خشکیدگی سرشاخه‌ها همبستگی منفی معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود دارد (r= -۰/۵۴۸). بین غلظت قندهای کل محلول و کلروفیل کل همبستگی مثبت معنی‌داری در سطح ۱ درصد (r =۰/۴۶۹) وجود دارد. قندهای محلول در تنش‌های شدید محیطی در کنار دیگر آنزیم‌های متابولیکی سبب تجمع اکسیژن فعال (ROS) در سلول‌های گیاهی می‌شود (۱۹). و تولید بیش‌ازحد اکسیژن فعال (ROS) در پلاستیدها، پراکسی‌زوم‌ها، میتوکندری، سیتوزول و آپوپلاست سلول گیاهی سبب ایجاد تنش اکسیداتیو خواهد شد (۴۱) و در نتیجه کاهش ظرفیت فتوسنتزی و غلظت کلروفیل خواهد شد. به نظر می‌رسد تجمع قندهای محلول در دمای ۵°C- سبب تولید و تجمع ROS در سلول‌های گیاهی شده است و در پی آن تنش اکسیداتیو، آسیب به میتوکندری و کاهش غلظت قند در سلول در نتیجه کاهش دما شده است که این روند کاهشی در محتوای کلروفیل کل نیز مشاهده شده است.

همبستگی منفی معناداری که بین غلظت قندهای کل محلول و خشکیدگی سرشاخه‌ها در سطح ۱ درصد مشاهده شد (r = -۰/۴۳۶). ناشی از تاثیر غلظت قندهای محلول بر تحمل به انجماد در سلول‌های گیاهی است به‌طوری‌که افزایش غلظت قندهای کل

محلول سبب افزایش تحمل به انجماد خواهد شد و در نتیجه کـاهش خسارات سرما و یخبندان به اندام هوایی درخت خواهد شد (۳۰).

بین درصد ریزش برگ و درصد خشکیدگی سرشاخه‌ها همبستگی مثبت معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود دارد (r= ۰/۴۸۱).

نتیجه‌گیری

نهال‌های پرتقال تامسون ناول تـا دمـای ۵°C- آسیب چنـدانی نمی‌بینند اما با کاهش دما خسارات ناشی از یخزدگی افزایش مـی‌یابـد به طوری که آثار یـخ‌زدگـی بـه‌صـورت ریـزش بـرگ و خشـکیدگی سرشاخه‌ها در دمای ۸°C- قابل مشاهده است. موم کارنوبا در غلظـت بـه کـار رفتـه در ایـن آزمـایش بـا جلـوگیری از ریـزش بـرگ‌هـا در دمای۸°C- نقش مثبتی دارد اما گلایکول پتـاس بـا افـزایش ریـزش برگ‌ها و خشکیدگی سرشاخه ها نقش منفـی داشـته اسـت. افـزایش میزان پتاسیم برگ از طریق گلایکول پتاس نه‌تنها مقاومت به سرما را افزایش نداده است بلکه باعث افزایش حساسیت به یخزدگی هم شده است. برای افزایش تحمل سرمازدگی درختان مرکبات ، پتاسیم باید از منابع دیگری تامین شود. نتایج این آزمایش نشان داد استفاده از مـوم کارنوبا تا ۴۸ سـاعت قبـل از وقـوع سـرمای احتمـالی کـه از طریـق هواشناسی اعلام می‌گردد با غلظت ۴ درصد می‌تواند تا دمـای۸°C- که به طور معمول گیاه از بین می‌رود آن را زنده نگه دارد، اما با عبـور از این دما، مثلا در ۱۱- درجه سانتی‌گراد قادر به حفظ گیاه نمی‌باشد.

منابع

1- Aghaee A., Moradi F., Zare-Maivan H., Zarinkamar F., Irandoost H.P., and Sharifi P. 2011. Physiological responses of two rice (*Oryza sativa*) genotypes to chilling stress at seedling stage. African Journal of Biotechnology 10(39):7617-7621. (In Persian with English abstract)

2- Antognozzi E., Famiani F., Proietti P., Pannelli G., and Alfei B. 1993. Frost resistance of some olive cultivars during the winter. In II International Symposium on Olive Growing 356: 152-155.

3- Arnone A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23(1): 112-121.

4- Arvin A., and Azimzadeh S. 2018. Synoptic Investigation of Frosty Orange Crop in Mazandaran Province in February 2013. Journal of Environmental Science and Technology (Ready to Release). (In Persian)

5- Baghbanha m., Fotouhi GR., Hatamzadeh A., and Haidari M. 2007.Effect of salicylic acid on freezing tolerance of Mexican lime (*Citrus aurantifolia*). Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 8(3) 185-198. (In Persian with English abstract)

6- Bajji M., Kinet J.M., and Lutts S. 2002. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. Plant Growth Regulation 36(1): 61-70.

7- Bartholic J.F. 1985. Thin layer foam for plant freeze protection. In Proc. Fla. Hort. Soc 85: 299-302.

8- Bartolozzi, F., and Fontanazza G. 1999. Assessment of frost tolerance in olive (*Olea europaea*). Scientia Horticulture 81(3): 309-319.

9- Bates L.S., Waldren R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil 39(1): 205-207.

10- Borgo L., Marur C.J., and Vieira L.G.E. 2015. Effects of high proline accumulation on chloroplast and mitochondrial ultrastructure and on osmotic adjustment in tobacco plants. Acta Scientiarum. Agronomy 37(2): 191-199.

11- Hagen Maier R. D., and Baker R. A. 1995. Layered coatings to control weight loss and preserve gloss of citrus fruit. HortScience 30(2): 296-298.

12- Hassibi P., Nabi pour M., and Moradi F. 2011. The glucose-intermediate role in ABA signaling and its influence on several physiological characteristics of rice (*Oryza sativa*) seedlings during low temperature stress. International Journal of Agri Science 1(7): 183-183. (In Persian with English abstract)

13- Hendershott C.H. 1962. The response of orange trees and fruits to freezing temperatures. In Proc. Amer. Soc. Hort. Sci l 80: 247-254.

14- Himelrick D.G., Pool R.M., and McInnis P.J. 1991. Cryoprotectants influence freezing resistance of grapevine bud and leaf tissue. HortScience 26(4): 406-407.

15- Hodges A., Rahmani M., and Mulkey D. 2010. Economic Impacts of the Florida Citrus Industry in 2003-04.

16- Huyen N.T., and Tanachai P. 2015. August. Effects of mixed wax (beeswax and carnauba wax) on fruit quality and storage life of Vietnamese sweet orange'Canh'during low-temperature storage. In III Southeast Asia Symposium on Quality Management in Postharvest Systems 1179: 77-86.

17- Irigoyen J.J., Einerich D.W., and Sánchez-Díaz M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia plantarum 84(1): 55-60.

18- Karlinsky N. 2012. California dreaming: ideology, society, and technology in the citrus industry of Palestine 1890-1939. SUNY Press.

19- Keunen E.L.S., Peshev D., Vangronsveld J., Van Den Ende W.I.M., and Cuppers A.N.N. 2013. Plant sugars are

crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. Plant, Cell & Environment 36(7): 1242-12
20- Larcher W. 2003. Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. Springer Science & Business Media.
21- Li X., Wei J.P., Scott E., Liu J.W., Guo S., Li Y., Zhang L., and Han W.Y. 2018. Exogenous melatonin alleviates cold stress by promoting antioxidant defense and redox homeostasis in Camellia sinensis L. Molecules 23(1): 165
22- Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., and Becker D.F. 2013. Proline mechanisms of stress survival. Antioxidants & Redox Signaling 19(9): 998-1011.
23- Lutts S., Kinet J.M., and Bouharmont J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa*) cultivars differing in salinity resistance. Annals of Botany 78(3): 389-398.
24- Markowski A., and Skrudlik G. 1995. Electrolyte leakage, ATP content in leaves and intensity of net photosynthesis in maize seedlings at permanent or different daily exposure to low temperatures. Journal of Agronomy and Crop Science 175(2): 109-117.
25- McCready R.M., Guggolz J., Silviera V., and Owens H.S. 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. Analytical Chemistry 22(9): 1156-1158.
26- Meighani H., Ghasemnezhad M., and Bakhshi D. 2015. Effect of different coatings on post-harvest quality and bioactive compounds of pomegranate (*Punica granatum*) fruits. Journal of Food Science and Technology 52(7): 4507-4514. (In Persian with English abstract).
27- Munns R., and Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annu. Rev. Plant Biol 59: 651-681.
28- Nascimento F.V., Almeida G.K., Silva S.J.N., and Bender, R.J. 2016. Coatings based on chitosan and carnauba wax for postharvest use on'Rocha'pears. In VIII International Postharvest Symposium: Enhancing Supply Chain and Consumer Benefits-Ethical and Technological Issues 1194: 283-288.
29- Rutten D., and Santarius K.A. 1992. Relationship between frost tolerance and sugar concentration of various bryophytes in summer and winter. Oecologia 91(2): 260-265.
30- Sadeghi H., and Ghanbari A. 2008. August. A Survey of Damage of Citrus in the Mazandaran Region of Iran Following the January 2008 Freeze. In IX International Symposium on Integrating Canopy, Rootstock and Environmental Physiology in Orchard Systems 903: 1163-1168. (In Persian with English abstract)
31- Salvador M.L., Jaime P., and Oria R. 2001. Use of edible coatings to reduce water loss and maintain quality of Reinet apple. In VIII International Controlled Atmosphere Research Conference 600: 701-705.
32- Sambav. 2010. An integrated approach to peel breakdown in citrus. A theses presented to the graduate school of university of Florida, Master of Science.
33- Spiegel-Roy P., and Goldschmidt E.E. 1996. The biology of citrus. Cambridge University Press.
34- Spreen T.H., Barber R.E., Brown M.G., Hodges A.W., Malugen J.C., Mulkey W.D., Muraro R.P., Norberg R.P., Rahmani M., Roka F.M., and Rouse R.E. 2006. An economic assessment of the future prospects for the Florida citrus industry. Presentation to the Special Industry Task Force, Florida Department of Citrus, Lakeland, FL.
35- Steinle J.V. 1936. Carnauba Wax an expedition to its source. Industrial & Engineering Chemistry 28(9): 1004-1008.
36- Strauss G., and Hauser H. 1986. Stabilization of lipid bilayer vesicles by sucrose during freezing. Proceedings of the National Academy of Sciences 83(8): 2422-2426.
37- Szabados L., and Savoure A. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science 15(2): 89-97.
38- Tadjvar Y., Fotouhi G.R., Hamidoghli Y., and Hassan S.R. 2011. Physiological and biochemical responses of page mandarin on citrange rootstock to low temperature stress 3(9): 1-12. (In Persian with English abstract).
39- Taiz L., and Zeiger E. 2002. Plant Physiology.
40- Tripathy B.C., and Oelmuller, R. 2012. Reactive oxygen species generation and signaling in plants. Plant signaling & behavior 7(12): 1621-1633.
41- Valluru R., Lammens W., Claupein W., and Van den Ende W. 2008. Freezing tolerance by vesicle-mediated fructan transport. Trends in Plant Science 13(8): 409-414.
42- Verbruggen N., and Hermans, C. 2008. Proline accumulation in plants: a review. Amino acids 35(4): 753-759.
43- Yuanyuan M., Yali Z., Jiang L., and Hongbo S. 2009. Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress. African Journal of Biotechnology 8(10).

Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.1, Spring 2020, P. 33-44
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹، ص. ۴۴-۳۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Evaluation of Thamson- Navel Orange Young Trees Resistance to Freezing, Using Carnauba Wax and Glycol Potash

S. Taghizadeh[1]- H. Sadeghi[2*]- M. Hadadinejad[3]
Received: 02-02-2019
Accepted: 09-02-2020

Introduction: Influx of Siberian cold air masses into the northern parts of Iran causes severe decrease in temperature, heavy snowfall and freezing of citrus every few years. Depending on the temperature drop, in some years only fruits and in some years, citrus trees suffer severe damage too. One of the sudden drops in temperature was in January 2007, when the temperature dropped from -7 degrees Celsius to -13 degrees Celsius. Consecutive damage to citrus trees and crops in the north of the country has caused citrus gardeners to despair of its economic viability and to refrain from rehabilitating destroyed orchards. The mechanisms of frost resistance and relative tolerance to cold in citrus include physiological adaptation and metabolic changes. These changes will lead to the production of various cellular osmolytes, the accumulation of soluble substances, changes in lipid metabolism (with an increase in unsaturated fatty acids), an increase in supercooling temperature, and ultimately an increase in plant resistance. The use of passive and active methods can also partially prevent frost damage or reduce the severity of the injury, but spraying with compounds that may provide physical protection of trees against freezing or spraying chemicals that reduce the freezing point of the cellular fluid by altering the concentration of the cell sap could be more promising.

Materials and Methods: Experimental factors include freezing temperatures at three levels (-5, -8 and -11° C) and spraying with two types of experimental material including carnauba wax in two concentrations of zero and four percent (manufactured by Orange Saft SL, Spain) and glycol potash in two concentrations of zero and 10% (prepared by Pooshesh sabze Company, Iran), carnauba + glycol potash (carnauba wax in 4% concentration and 10% glycol potash concentrate) and control (distilled water solution.(

Results: Electrolyte leakage is the uncontrolled leakage of organic ions from the cell membrane due to stress and damage to the membrane. The lowest electrolyte leakage was observed at -5° C and the highest one was at -8° C. As a messenger molecule, proline is effective in regulating mitochondrial activity, cell proliferation, and cell death. Proline also expresses certain genes that are essential for improving plant conditions under stress. Proline concentration increased with decreasing temperature but it decreased again at -8 ° C. Using carnauba wax at -5 ° C has reduced the concentration of total soluble sugars (66.92 micro g / g by weight) but did not significantly differ from the control treatment (83/23) and -11 ° C. Frost tolerance and frost resistance vary in different organs of citrus trees. Young shoots and twigs are very sensitive to cold and frost, so their tissues change color due to the cold. If the intensity of cold and frost increases, it will cause the shoots to dry out. freezing temperature has a significant effect on Shoot dying back, so that the highest dryness of the shoots was observed at -11 ° C (91.66%) and the lowest at -5° C (10.41%). The highest percentage of leaf abscission was observed at -11 and the lowest with significant difference at -5° C. Symptoms of freezing such as leaf abscission and tree Shoot dying back are not seen up to -5 ° C but they are well visible at -8 ° C. Experimental treatments also failed to prevent shoots from drying out at -11° C.

Conclusion: Thomson navel orange young trees do not suffer much damage up to -5° C, but as the temperature decreases, the damage caused by frost increases in the form of leaf abscission and Shoot dying back of branches. Carnauba wax has a positive role in this experiment by preventing leaf abscission at -8 ° C, but glycol potash has a negative role by increasing leaf abscission and Shoot dying back. Increasing leaf potassium levels through potash glycol not only did not increase cold resistance but also increased susceptibility to frost. Potassium must be supplied from other sources. The results of this experiment showed that the use of carnauba wax up to 48 hours before the possible cold, which is announced through meteorology, with a concentration of 4%, can keep it alive up to -8 ° C, which normally destroys the plant, but with passing through this temperature, for example at -11 degrees Celsius, is not able to maintain the plant.

Keywords: Citrus, Freezing, Leaf abscission, Shoot dying back, Siberian cold air

1 and 2- M.Sc. Student and Associate Professor Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: sadeghiah@yahoo.com)
3- Assistant Professor of Department Horticultural Sciences, Crop Sciences College, Research Institute of Medicinal Plants Biotechnologies (RIMPBio), Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU)